

倪晗, 刘博华, 吴奎显, 等. 胆碱对奶牛肝脏细胞脂滴形成的影响及机制研究 [J]. 畜牧与兽医, 2025, 57 (7): 65-71.

NI H, LIU B H, WU K X, et al. Effect and mechanism of choline on lipid droplet formation in hepatocytes of dairy cows *in vitro* [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2025, 57 (7): 65-71.

## 胆碱对奶牛肝脏细胞脂滴形成的影响及机制研究

倪晗<sup>#</sup>, 刘博华<sup>#</sup>, 吴奎显, 范雨欣, 高古睿, 杨玉, 闫丽萍, 郭爽,  
杨彦宾, 刘洋<sup>\*</sup>, 韩立强<sup>\*</sup>

(河南农业大学动物医学院, 河南省兽医生物技术重点实验室, 河南 郑州 450046)

**摘要:** 旨在探讨胆碱缺乏和补充胆碱对奶牛肝细胞脂滴形成的影响及其机制。试验用 50  $\mu\text{mol/L}$  的非酯化脂肪酸 (non-esterified fatty acids, NEFA) 处理奶牛肝细胞 24 h, 建立肝细胞脂滴积聚模型; 在缺乏胆碱时及使用不同浓度胆碱对细胞进行处理, 采用油红 O 染色观察细胞脂滴的大小和数量的变化, 薄层色谱法测定磷脂含量, Western blot 检测细胞自噬相关蛋白表达水平。结果: 在胆碱缺乏培养基中, 肝细胞的脂滴含量和直径显著增大, 添加 15、30 和 60  $\mu\text{mol/L}$  胆碱后, 脂滴的大小随着胆碱浓度的增加而逐渐减小, 脂滴平均直径分别为 1.98、1.68 和 1.54  $\mu\text{m}$ ; 与对照组相比, 磷脂酰胆碱和磷脂酰乙醇胺的含量随胆碱浓度的增加而显著升高 ( $P < 0.05$ ); 补充胆碱可激活奶牛肝细胞自噬, 自噬标志物 LC3-II/LC3-I 蛋白比例显著升高, P62 蛋白的表达水平显著降低 ( $P < 0.05$ )。综上, 缺乏胆碱可引起奶牛肝细胞脂滴直径增大, 而补充胆碱可逆转脂滴的这一表型, 细胞磷脂和自噬可能在其中发挥调控作用。

**关键词:** 奶牛; 肝细胞; 胆碱; 脂滴; 自噬

**中图分类号:** S858.23 **文献标志码:** A **文章编号:** 0529-5130(2025)07-0065-07

## Effect and mechanism of choline on lipid droplet formation in hepatocytes of dairy cows *in vitro*

NI Han<sup>#</sup>, LIU Bohua<sup>#</sup>, WU Kuixian, FAN Yuxin, GAO Gurui, YANG Yu, YAN Liping, GUO Shuang,  
YANG Yanbin, LIU Yang<sup>\*</sup>, HAN Liqiang<sup>\*</sup>

(Henan Province Key Laboratory of Veterinary Biotechnology, College of Veterinary Medicine,  
Henan Agricultural University, Zhengzhou 450046, China)

**Abstract:** Dietary choline supplementation can prevent and treat fatty liver disease in perinatal period of dairy cows, but the role of choline in this process is unclear. The aim of this study was to investigate the effects of choline deficiency and supplementation on lipid droplet formation in cultured dairy cow hepatocytes. Dairy cow hepatocytes were treated with 50  $\mu\text{mol/L}$  non-esterified fatty acid (NEFA) for 24 h to establish a lipid droplet accumulation model, which was then cultured in the media lacking choline and treated with different concentrations of choline, respectively. The size and quantity of lipid droplet were observed by oil red O staining, and the phospholipid content was determined by thin layer chromatography. Finally, the expression of autophagy related proteins was detected by western blot. The results showed that the lipid droplet content and diameter of hepatocytes increased significantly in the choline-deficient medium. With the addition of 15, 30, and 60  $\mu\text{mol/L}$  choline respectively, the lipid droplet size gradually decreased with the increase in choline concentration, and the average lipid droplet diameter was 1.98  $\mu\text{m}$ , 1.68  $\mu\text{m}$ , and 1.54  $\mu\text{m}$ , respectively. Choline deficiency affected the contents of phospholipids such as phosphatidylcholine (PC) and phosphatidylethanolamine (PE). Compared with the control group, the contents of PC and PE were significantly increased with choline supplementation in the treated groups ( $P < 0.05$ ). Choline supplementation induced autophagy activation in dairy cow hepatocytes, and the proportion of the autophagy marker the LC3-II/LC3-I protein was gradually increased, while the expression of the P62 protein was gradually decreased ( $P < 0.05$ ). These results indicated that choline deficiency in dairy cow hepatocytes increased lipid droplet size. The phenotype of lipid droplet was reversed after choline supplementation, and phospholipid composition and autophagy might play a

收稿日期: 2024-07-01; 修回日期: 2025-04-24

基金项目: 河南省杰出青年科学基金项目 (242300421029); 河南省重点研发专项 (231111111400)

第一作者: 倪晗, 女, 硕士研究生; 刘博华, 女, 本科生。<sup>#</sup>共同第一作者

<sup>\*</sup>通信作者: 刘洋, 讲师, 主要从事动物生理学方面的研究, E-mail: liuyang20231218@163.com; 韩立强, 教授, 主要从事反刍动物泌乳生理学方面的研究, E-mail: qlhan2001@126.com。

regulatory role in this process.

**Keywords:** dairy cows; hepatocytes; choline; lipid droplets; autophagy

奶牛围产期通常指奶牛从分娩前3周到分娩后3周<sup>[1]</sup>。由于围产期内饲料摄入减少,奶牛无法满足其维持和哺乳的能量需求<sup>[2]</sup>,经常会造成奶牛机体能量负平衡。为了缓解这种能量亏损,奶牛会动用其脂肪储备,释放大量的非酯化脂肪酸(non-esterified fatty acids, NEFA)进入血液循环,以满足其生理需求。部分NEFA虽然能被肝脏摄取进行 $\beta$ 氧化,为机体提供大量能量,但是过量积累的NEFA通过酯化反应转化为大量的甘油三酯,引起奶牛脂肪肝<sup>[3]</sup>,导致奶牛的肝功能损伤,影响奶牛的健康和泌乳性能<sup>[4]</sup>。脂滴(lipid droplet, LD)是细胞中存储甘油三酯的细胞器,主要影响细胞的能量平衡和脂质代谢。脂肪肝细胞的表型变化包括脂肪变性,细胞中积累数量更多、尺寸更大的脂滴。研究发现,奶牛围产期的脂肪肝组比正常肝脏组甘油三酯增多,体外培养肝脏细胞过表达脂滴蛋白引起脂滴直径明显增大<sup>[5]</sup>。因此,对奶牛肝细胞脂滴形成和大小的研究,有助于阐明奶牛脂肪肝的形成机制。

胆碱属于B族维生素,作为一种动物生长发育的必需营养素,胆碱缺乏会增加肝脂质的积累(脂肪变性),引发肝脏炎症,并促进非酒精性脂肪肝的形成<sup>[6]</sup>。在奶牛围产期补充过瘤胃胆碱,可以预防和减轻奶牛的脂肪肝疾病<sup>[7]</sup>,然而胆碱影响奶牛肝细胞脂滴形成的机制尚不清楚。因此,本研究通过奶牛肝细胞体外添加NEFA诱导脂滴积聚,在胆碱缺乏培养基培养细胞观察脂滴大小和数量,再通过补充胆碱研究其调节奶牛肝细胞脂滴表型的机制,为生产上利用胆碱来改善奶牛脂肪肝提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞

奶牛原代肝细胞,由美国伊利诺伊大学 Juan J Looor 博士惠赠。

### 1.2 主要试剂和仪器

氯化胆碱,纯度99.0%,购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司;无胆碱培养基为定制高糖型DMEM无氯化胆碱培养基,购自吉诺生物医药技术有限公司;胎牛血清、0.25% EDTA 胰酶,购自美国 Gibco 公司;脂肪酸、油红 O,购自北京索莱宝科技有限公司;苏木素染液,购自鼎国公司;磷脂酰胆碱(PC)和磷脂酰乙醇胺(PE),购自 CATO 研究化学品公司;甘油三酯试剂盒,购自普利莱基因技术有限公司;超灵敏化学发光检测试剂盒(ECL),购自上

海雅酶生物医药科技有限公司;RIPA Lysis Buffer,购自中国 Beyotime 公司; $\beta$ -actin (66009-1-Ig) 和 LC3B 单克隆抗体(ab48394)购于 Abcam 公司;P62/SQSTM1 多克隆抗体(18420-1-AP)以及 HRP 偶联的羊抗兔 IgG 抗体、HRP 偶联的羊抗鼠 IgG 抗体均购于 Proteintech 公司。

超灵敏多功能成像仪(德国 GE 公司),5414R 型台式高速冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司),光学显微镜(德国 Leica 公司)。

NEFA 储备液(10 mmol/L),其组成与浓度均与血清 NEFA 相近,包括:油酸(4.35 mmol/L),亚油酸(0.49 mmol/L),棕榈酸(3.19 mmol/L),硬脂酸(1.44 mmol/L),棕榈油酸(0.53 mmol/L)。

### 1.3 细胞培养

从液氮罐中取出1支冻存的奶牛肝细胞,放在37℃水浴锅中迅速融化,在无菌操作台将融化好的细胞转移到2 mL 离心管中,1 100 g 离心3 min,弃掉上清液,用枪头打散细胞。将混匀好的细胞移入含有10% FBS 培养基细胞培养板中,放入37℃培养箱培养。

### 1.4 细胞分组和处理

所有细胞试验均在培养板上进行,每组4孔,重复3次。细胞在无血清 DMEM 中培养,加入50  $\mu$ mol/L NEFA 处理12 h,以诱导肝细胞脂滴积聚。随后将细胞在无氯化胆碱培养基中培养,作为0  $\mu$ mol/L 胆碱处理组,在细胞培养液中胆碱的正常浓度为30  $\mu$ mol/L,因此添加15、30和60  $\mu$ mol/L 氯化胆碱作为试验处理组。

### 1.5 CCK-8 法检测细胞活力

收集6孔板中处于对数期的奶牛肝细胞,用750  $\mu$ L 胰酶消化3 min,加入750  $\mu$ L 培养基终止消化,750 r/min 离心4.5 min,弃去上清液;加入1 mL 培养基制成细胞悬液,计数。在96孔板中以细胞密度 $2 \times 10^4$ 个/孔左右,细胞混合液体积为100  $\mu$ L/孔接种;将96孔板置于37℃、5% CO<sub>2</sub>培养箱中继续培养;显微镜下观察细胞,当细胞生长到70%~80%时,分别加入0、25、50、75、100和150  $\mu$ mol/L NEFA 刺激,每个浓度设6个复孔,然后置于37℃、5% CO<sub>2</sub>细胞培养箱中处理24 h。在检测时间结束前3 h,每孔加入10  $\mu$ L CCK-8 试剂,置于37℃、5% CO<sub>2</sub>培养箱中孵育。达到检测时间后,打开酶标仪,将96孔板置于其上并在450 nm 的波长下检测每孔的吸光度值并计算细胞活力。计算公式

如下:

细胞活力 = (加药组 OD 值 - 空白组 OD 值) / (对照组 OD 值 - 空白组 OD 值) × 100%。

### 1.6 脂滴油红 O 染色

取出细胞板,用 PBS 洗涤 3 次,用 4% 多聚甲醛固定液固定 20~30 min,用 PBS 洗涤 3 次。加入 60% 异丙醇洗 5 min,然后加入新配制的油红 O 工作液(油红 O : 水 = 3 : 2)静置 20~30 min,丢弃染色液, PBS 洗涤 2~5 次,直到没有多余的染料溶液。取出细胞爬片,置于载玻片上,在光学显微镜油镜下拍照观察脂肪滴。利用 Cell Sens 软件测量脂肪滴直径,分析处理对脂滴的数量和大小的影响。

### 1.7 细胞脂质含量测定

细胞培养处理后,按照甘油三酯试剂盒的具体说明进行脂质含量检测,结果用荧光强度表示。

### 1.8 薄层色谱检测细胞磷脂

按照 Folch 等<sup>[8]</sup>方法提取肝细胞中的脂质。用薄层层析法(TLC)测定提取脂中总 PC 和 PE 含量。取下涂好薄层的 GF254 硅胶板,放在烘箱中在 110 °C 活化 40 min,用点样器分别取标准 PC、PE 以及 0、15、30、60 μmol/L 氯化胆碱处理组各 5 μL 脂质提取液在薄层板上点样;选择规格为 100 mm × 200 mm 大小的展开缸,在展开前用氯仿-甲醇-水(体积比为 65 : 25 : 4)分离脂类,用 5% 磷酸钼乙醇染色进行检测。磷脂含量通过与标准 PC 和 PE 进行比较来定量。

### 1.9 蛋白质印迹法检测细胞蛋白表达

移除培养液收集细胞,使用康为世纪全蛋白提取试剂盒和蛋白定量试剂盒提取全蛋白,具体操作按说明书进行。定量完成后,进行 SDS-PAGE,随后使用 PVDF 膜进行湿转操作,室温封闭 2 h,过夜 4 °C 一抗(LC3、p62)孵育,5% BSA 作为稀释液,以 1 : 500 稀释抗体;β-actin 以 1 : 5 000 稀释;将 PVDF 膜裁剪后置于抗体中,摇床过夜;回收一抗,洗膜 5 min,5 次,之后于室温孵育羊抗兔或羊抗鼠二抗(1 : 5 000) 1.5 h,回收二抗,洗膜 5 min,5 次,最后用化学发光显色仪检测。

### 1.10 统计分析

所有数据通过 SPSS 20.0 进行统计分析。数据采用“平均值±标准差”表示,至少有 3 个重复,采用单因素方差分析和 *t* 检验进行显著性分析, $P < 0.05$  表示两组间有显著差异。

## 2 结果

### 2.1 NEFA 诱导奶牛肝细胞脂滴积累模型

为模拟奶牛体内脂肪肝形成环境,在本试验中首

先建立了 NEFA 诱导的肝细胞脂滴积聚模型。在培养基中加入 25、50、75、100 和 150 μmol/L 浓度的 NEFA 处理奶牛肝细胞 24 h,通过油红 O 染色,观察细胞内脂滴形成情况(图 1A)。结果发现,奶牛肝细胞内脂滴平均直径在 0~150 μmol/L NEFA 处理下呈剂量依赖性增加(图 1B),在 25、50、75、100 和 150 μmol/L NEFA 处理下,胆碱补充组的脂滴平均直径分别为 0.65、0.79、1.11、1.65 和 1.70 μm,说明外源添加 NEFA 增加了奶牛肝细胞中脂滴的大小。CCK-8 细胞活力检测发现,当 NEFA 作用时间为 24 h,随着 NEFA 浓度的升高细胞活力逐渐减低;当 NEFA 浓度高于 100 μmol/L 时,细胞增殖明显受到抑制,导致大量细胞死亡(图 1C),说明 NEFA 可以降低细胞活力,并与作用浓度有关。综合油红 O 和 CCK-8 的结果表明,在不影响细胞活力的情况下,50 μmol/L 的 NEFA 对细胞脂滴作用最为明显,因此,后续试验选用 50 μmol/L NEFA 处理奶牛肝细胞 24 h 来诱导形成脂滴积累模型。

### 2.2 胆碱缺乏对奶牛肝细胞脂滴的影响

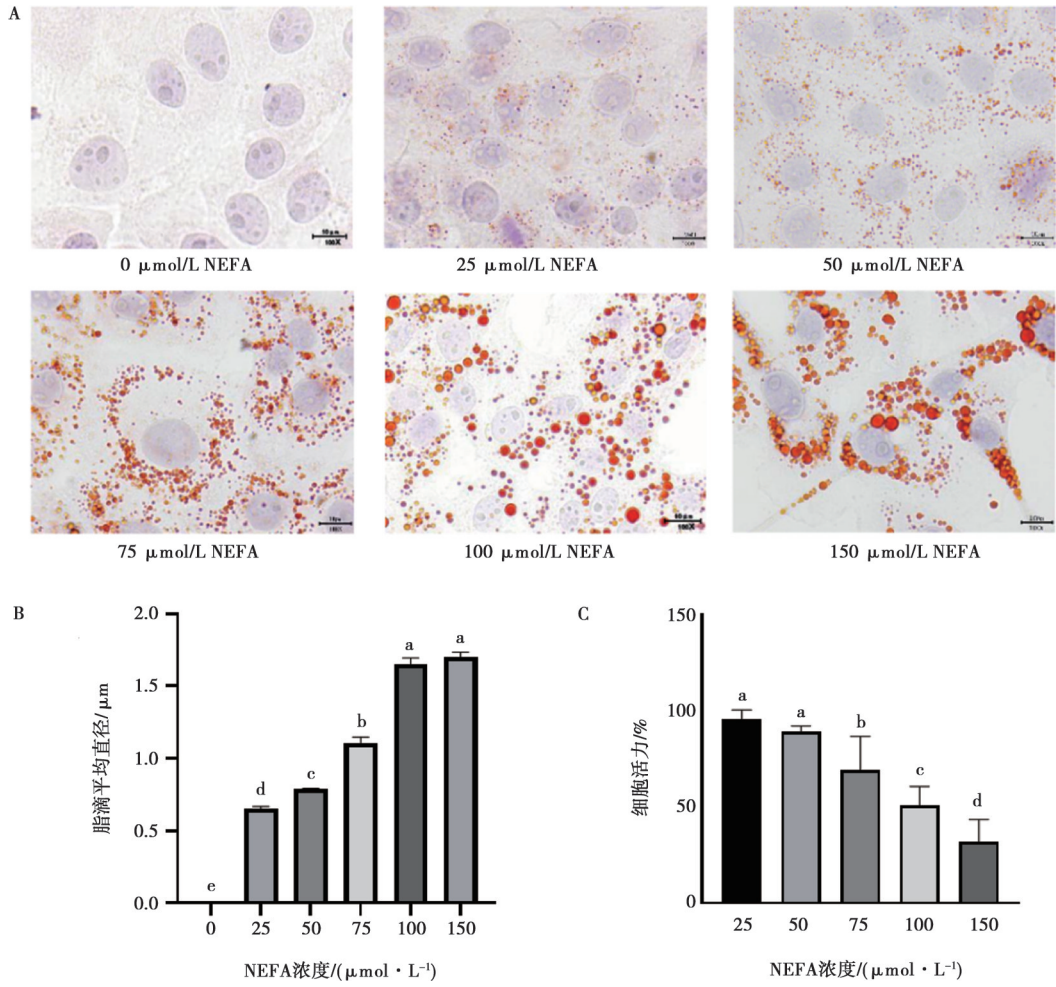
将奶牛肝细胞在 50 μmol/L NEFA 以及胆碱缺乏培养基中培养 24 h,经过油红染色后结果如图 2 所示。与正常 50 μmol/L NEFA 处理组(CON)相比,胆碱缺乏组(CD)细胞中的脂质含量和细胞脂滴的大小显著增高( $P < 0.05$ )。这一结果表明,胆碱缺乏可以引起肝脏细胞的脂质含量增多,脂滴的直径变大。

### 2.3 补充胆碱对奶牛肝细胞脂滴的影响

随着胆碱补充浓度的升高,脂滴小型化趋势显著,小脂滴比例逐步上升,大脂滴比例显著下降(图 3A、B);脂滴平均数量整体呈增加的趋势(图 3C),而脂滴平均直径呈下降趋势(图 3D)。这一结果表明,补充胆碱可引起奶牛肝细胞内脂滴的表型变化,使脂滴直径变小和数量增多,使大脂滴的比例减小,小脂滴比例增加。

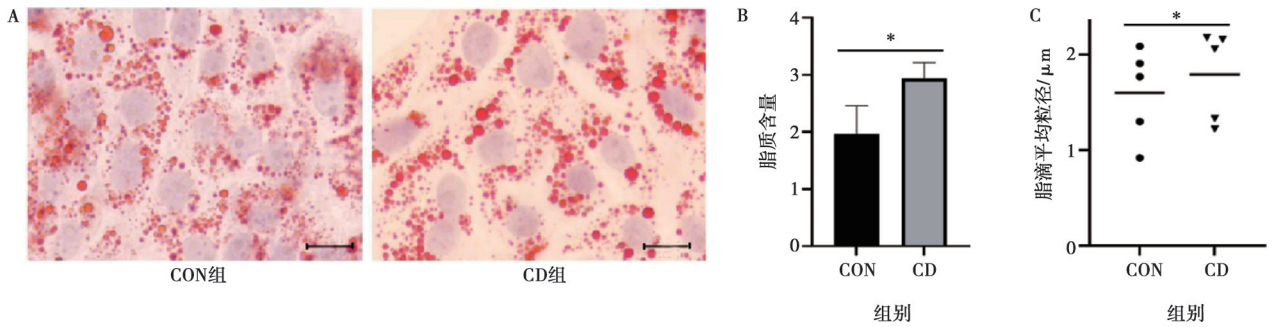
### 2.4 胆碱对奶牛肝细胞磷脂的影响

为了进一步研究胆碱对脂滴生成的调控机制,试验通过薄层色谱分析了胆碱对细胞磷脂 PC 和 PE 的影响。结果如图 4 所示,与 0 μmol/L 胆碱处理组相比,随着胆碱浓度的增多,PC 含量也呈增加趋势,并呈现浓度依赖性,其中 60 μmol/L 胆碱组增加显著( $P < 0.05$ );PE 的含量在 30 和 60 μmol/L 胆碱处理下也显著增加( $P < 0.05$ )。以上结果表明,补充胆碱可以影响奶牛肝细胞的磷脂合成,增加细胞 PC 和 PE 含量。



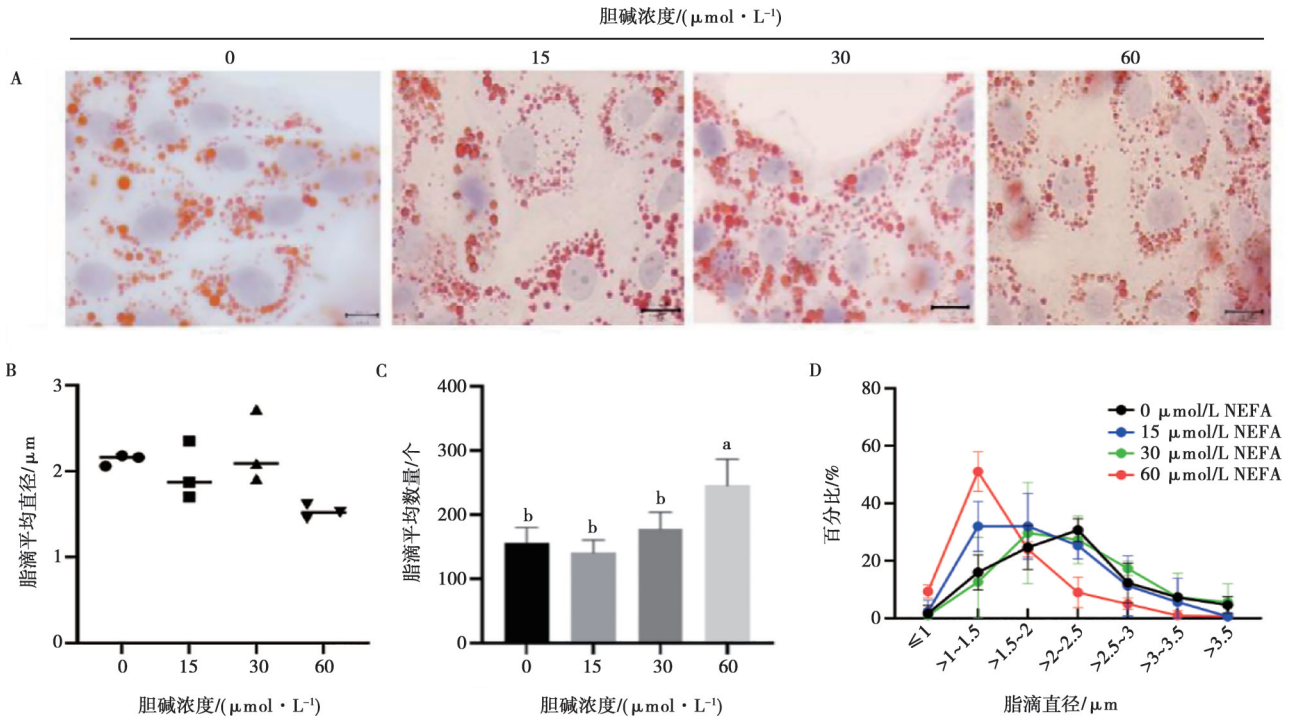
A. 细胞脂滴油红 O 染色; B. 细胞脂滴直径测定; C. 细胞活力测定; 不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ ), 下同。

图 1 不同浓度 NEFA 处理对细胞脂滴形成和细胞活力的影响



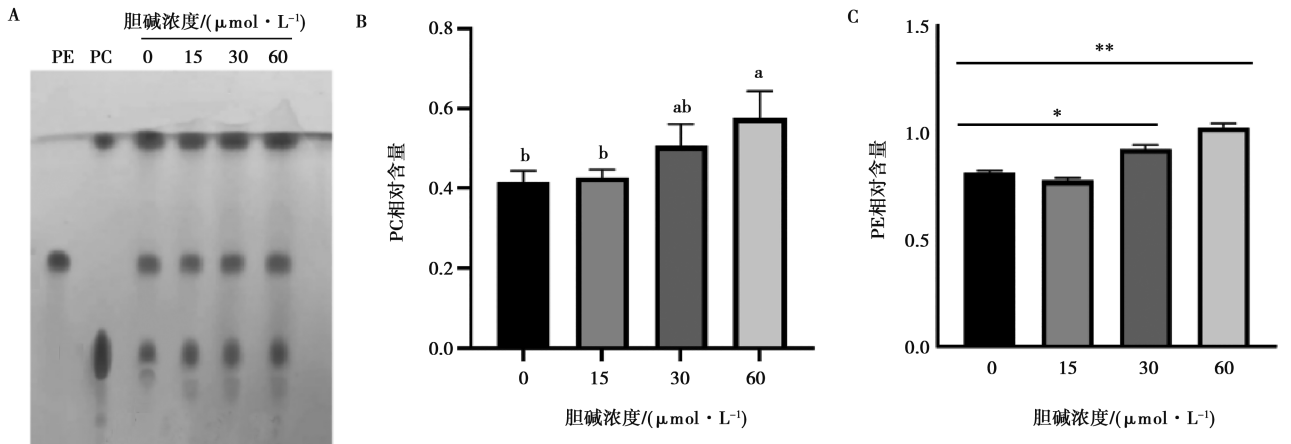
A. 细胞脂滴油红 O 染色 (标尺 = 10  $\mu\text{m}$ ); B. 细胞脂质含量测定; C. 细胞脂滴直径测定; \* 表示差异显著 ( $P < 0.05$ ), 下同。

图 2 不同浓度胆碱缺乏对脂滴大小和数量的影响



A. 油红 O 染色脂滴 (标尺 = 10  $\mu\text{m}$ ); B. 脂滴平均直径; C. 脂滴平均数量; D. 脂滴大小分布比例。

图 3 不同浓度胆碱对牛肝细胞脂滴形成的影响



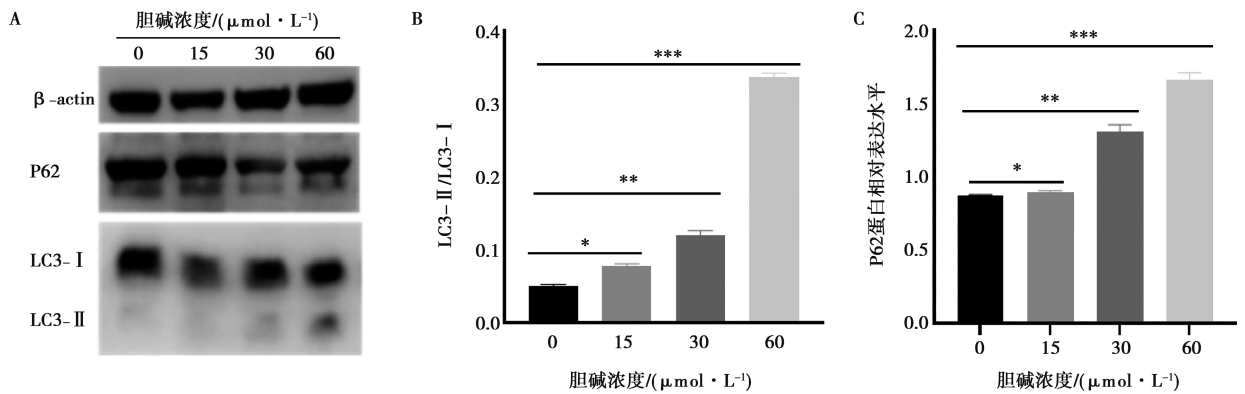
A. 薄层色谱分析细胞磷脂; B. 细胞 PC 的相对含量; C. 细胞 PE 的相对含量; \*\* 表示差异极显著 ( $P < 0.01$ ), 下同。

图 4 不同浓度胆碱对奶牛肝细胞磷脂含量的影响

### 2.5 胆碱对奶牛肝细胞自噬蛋白表达的影响

LC3、P62 蛋白是检测自噬水平的重要标志物, 在添加 15、30 和 60  $\mu\text{mol/L}$  胆碱后, 自噬标志物 LC3- II/LC3- I 的比值显著增加 (图 5A、B), 而

P62 蛋白的表达显著降低 (图 5C) ( $P < 0.05$ )。这一结果表明, 无胆碱时自噬活性受到抑制, 而补充胆碱能够激活奶牛肝细胞的自噬活性。



A. Western blot 分析; B. LC3-II/LC3-I; C. P62 蛋白表达水平; \* \* \* 表示差异极显著 ( $P < 0.001$ )。

图 5 不同浓度胆碱对牛肝细胞脂自噬蛋白表达水平的影响

### 3 讨论

在体外培养的细胞中,脂滴生成数量很少或几乎没有。为模拟奶牛围产期体内脂肪肝形成环境,一般在培养基中加入 NEFA 以加速脂滴积聚<sup>[9]</sup>。从本试验可以看到,随着 NEFA 浓度的增加,脂滴逐渐积聚增多和直径变大,由于非酯化脂肪酸的毒性,NEFA 浓度过大会引起细胞大量死亡,因此综合细胞活力和脂滴积聚的结果,选择了  $50 \mu\text{mol/L}$  的 NEFA 处理细胞进行后续试验。

胆碱是构成细胞膜的基本成分,是体内合成 PC 的重要底物。研究表明,高产奶牛在分娩前后可能缺乏胆碱,这会对肝脏功能,特别是极低密度脂蛋白(VLDL)的合成和分泌产生不利影响,而在围产期补充胆碱可以减少甘油三酯在肝脏中的储存<sup>[10]</sup>。VLDL 的装配或肝细胞分泌需要磷脂酰胆碱,如果磷脂酰胆碱的含量不足会诱发肝细胞成脂肪肝,所以当磷脂酰胆碱受到限制时,补充胆碱可以提高 VLDL 的合成速度,从而帮助围产期奶牛的肝脏处理多余的脂肪,让甘油三酯能顺利转移出肝脏<sup>[11-12]</sup>。本试验发现,体外培养的奶牛肝细胞在胆碱缺乏时,细胞脂质含量和脂滴直径明显增大,这表明肝细胞在缺乏胆碱时会造成脂滴的异常积累。添加不同浓度的胆碱后,发现奶牛肝细胞中脂滴的直径呈现剂量依赖性降低。刘喆佳等<sup>[13]</sup>发现,胆碱浓度在  $0 \sim 150 \mu\text{mol/L}$  范围内时,随着胆碱浓度增加,牛肝细胞内甘油三酯的含量显著降低,这与本研究结果一致。进一步分析脂滴的比例发现,胆碱能够影响不同直径脂滴的分布比例,表明在体外培养的牛肝细胞中,胆碱能够调控细胞脂滴的大小。

脂滴是细胞内脂质储存的主要场所,其核心是甘油三酯,外围包裹着一层脂滴膜。在细胞脂滴生长过

程中,磷脂等脂质会被添加到脂滴膜上,研究发现磷脂的生物利用度和组成成分的改变会对脂滴的大小产生影响<sup>[14]</sup>。在大多数组织中,当胆碱利用受到限制时,会破坏肝磷脂酰胆碱合成的稳态,而细胞内甘油三酯的含量和分解酶的活性受到胞内 PC 稳态的影响,补充胆碱使 PC 含量上升,影响脂滴膜的流动性和稳定性<sup>[15-16]</sup>。在本研究中,通过磷脂分析发现,随着胆碱的增加,胞内 PC 的含量也随之显著增加,这表明胆碱可能通过影响细胞 PC 等磷脂对细胞脂滴的大小发挥调控作用。

自噬是一种细胞自我降解的过程,可以靶向受损的蛋白或者细胞器等形成吞噬泡,并与溶酶体融合后降解并被回收<sup>[17]</sup>。LC3 是自噬通路中的关键标志物。可分为 2 种类型,分别为 LC3-I 和 LC3-II。LC3-I 主要存在于细胞质中,而 LC3-II 主要存在于自噬体及自噬溶酶体膜上。当自噬受到激活时,LC3-I 在自噬基因的作用下与磷脂酰乙醇胺偶联,将无活性的 LC3-I 转化为脂质化活性形式 LC3-II,活化后的 LC3-II 具有促进损伤细胞自噬的功能,因此 LC3-II/LC3-I 的比值高低可用于检测自噬的发生<sup>[18]</sup>。作为一种重要的自噬受体蛋白,P62 可以与自噬膜 LC3 蛋白和泛素蛋白结合,进一步将泛素化的降解物募集到自噬体中进行选择性降解,导致细胞 P62 水平降低。因此,一般认为 P62 水平的降低意味着自噬溶酶体的形成和自噬降解的发生,而 P62 水平升高表明自噬体不能与溶酶体结合,抑制自噬<sup>[19]</sup>。在本研究中,添加  $15$ 、 $30$  和  $60 \mu\text{mol/L}$  氯化胆碱后,LC3-II/LC3-I 的比值逐渐增加,而 P62 的表达逐渐减少,这表明胆碱能够激活细胞的自噬活性来调控脂滴的大小。近年来发现一种新的选择性自噬形式脂自噬,脂自噬可以选择性地吞噬脂滴<sup>[20]</sup>。胆碱在肝脏中转化成磷脂酰胆碱,磷脂合成途径是自噬体的膜

磷脂来源<sup>[21]</sup>, 因此磷脂酰胆碱的合成和降解对自噬体的形成至关重要。研究也发现, 自噬相关蛋白的表达可能影响脂滴自噬体的形成<sup>[22]</sup>。本试验发现, 补充胆碱会刺激自噬通路中的关键标志物 LC3- I 向 LC3- II 的转化, 下调底物蛋白 P62 的表达, 表明胆碱激活了自噬活性, 而脂滴自噬是细胞通过自噬途径清除脂滴的过程, 因此自噬可能是胆碱调控脂滴大小的一个重要途径。

## 4 结论

本试验通过胆碱处理奶牛肝脏细胞, 发现缺乏胆碱会引起奶牛肝细胞脂滴直径增大, 而补充胆碱可促使脂滴表型的恢复, 并且上调细胞磷脂含量和激活肝细胞自噬活性, 这为胆碱在治疗围产期奶牛脂肪肝上的应用提供了理论依据。

## 参考文献:

- [1] CONTRERAS G A, SORDILLO L M. Lipid mobilization and inflammatory responses during the transition period of dairy cows [J]. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, 2011, 34 (3): 281-289.
- [2] JANOVICK N A, BOISCLAIR Y R, DRACKLEY J K. Prepartum dietary energy intake affects metabolism and health during the periparturient period in primiparous and multiparous Holstein cows [J]. *J Dairy Sci*, 2011, 94 (3): 1385-1400.
- [3] BOBE G, YOUNG J W, BEITZ D C. Invited review: pathology, etiology, prevention, and treatment of fatty liver in dairy cows [J]. *J Dairy Sci*, 2004, 87 (10): 3105-3124.
- [4] RINGSEIS R, GESSNER D K, EDERK. Molecular insights into the mechanisms of liver-associated diseases in early-lactating dairy cows: hypothetical role of endoplasmic reticulum stress [J]. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*, 2015, 99 (4): 626-645.
- [5] JIA H D, LI X B, LIU G W, et al. Perilipin 5 promotes hepatic steatosis in dairy cows through increasing lipid synthesis and decreasing very low density lipoprotein assembly [J]. *J Dairy Sci*, 2019, 102 (1): 833-845.
- [6] GLADE M J, CROOK M A. Choline deficiency: is it being recognized? [J]. *Nutrition*, 2022, 94: 111509.
- [7] 崔志洁, 姜惺伟, 吴登科, 等. 过瘤胃烟酸和胆碱对围产期奶牛泌乳性能和肝脂质代谢的影响 [J]. *畜牧兽医学报*, 2022, 53 (3): 802-812.
- [8] FOLCH J, LEES M, STANLEY G H. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues [J]. *J Biol Chem*, 1957, 226 (1): 497-509.
- [9] 王艳辉. 胆碱对奶牛肝细胞脂质沉积中蛋白谱和代谢谱的影响 [D]. 大庆: 黑龙江八一农垦大学, 2017.
- [10] MCGUFFEY R. A 100-year review: metabolic modifiers in dairy cattle nutrition [J]. *J Dairy Sci*, 2017, 100 (12): 10113-10142.
- [11] PIEPENBRINK M S, OVERTON T R. Liver metabolism and production of cows fed increasing amounts of rumen-protected choline during the periparturient period [J]. *J Dairy Sci*, 2003, 86 (5): 1722-1733.
- [12] GRUMMER R R. Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient dairy cows [J]. *J Dairy Sci*, 1993, 76 (12): 3882-3896.
- [13] 刘喆佳. 胆碱调控奶牛肝细胞脂代谢的机制研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2022.
- [14] HERKER E, VIEYRES G, BELLER M, et al. Lipid droplet contact sites in health and disease [J]. *Trends Cell Biol*, 2021, 31 (5): 345-358.
- [15] CAVIGLIA J M, DE GÓMEZ DUMM I N, COLEMAN R A, et al. Phosphatidylcholine deficiency upregulates enzymes of triacylglycerol metabolism in CHO cells [J]. *J Lipid Res*, 2004, 45 (8): 1500-1509.
- [16] OLIVEIRA C P M S, da COSTA GAYOTTO L C, TATAI C, et al. Oxidative stress in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease, in rats fed with a choline-deficient diet [J]. *J Cell Mol Med*, 2002, 6 (3): 399-406.
- [17] MARTINEA-LOPEZ N, GARCIA-MACIA M, SAHU S, et al. Autophagy in the CNS and periphery coordinatelipophagy and lipolysis in the brown adipose tissue and liver [J]. *Cell Metabolism*, 2016, 23 (1): 113-127.
- [18] 袁宇晴, 龙丹, 谢超群, 等. 三物白散对胃癌细胞自噬相关蛋白 Beclin1、LC3、p62 表达的影响 [J]. *中医药导报*, 2024, 30 (3): 30-36.
- [19] SCHOTT M B, WELLER S G, SCHULZE R J, et al. Lipid droplet size directs lipolysis andlipophagy catabolism in hepatocytes [J]. *The Journal of Cell Biology*, 2019, 218 (10): 3320-3335.
- [20] LIISA E E, SHUN K, MASAOKI K. p62/SQSTM1 droplets initiate autophagosome biogenesis and oxidative stress control [J]. *Mol Cell Oncol*, 2021, 8 (2): 1890990.
- [21] SCHUÜTTER M, GIAVALISCO P, BRODESSER S. Local fatty acid channeling into phospholipid synthesis drives phagophore expansion during autophagy [J]. *Cell*, 2020, 180 (1): 135-149.
- [22] KOTANI T, YASUDA Y, NAKATOGAWA H, et al. Molecular mechanism of autophagy, cytoplasmic zoning by lipid membranes [J]. *J Biochem*, 2024, 175 (2): 155-165.